

А. Є. Поляков, Т. Ю. Понятовська

ЭФЕКТЫ ЛОЗАРТАНА В СКЛАДИ КОМБІНОВАНОЇ ТЕРАПІЇ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ ТА АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВАРІАНТУ ІНСЕРЦІЙНО-ДЕЛЕЦІЙНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ АНГІОТЕНЗИН-ПРЕТВОРЮЮЧОГО ФЕРМЕНТА

Одеський національний медичний університет

Реферат. А. Е. Поляков, Т. Ю. Понятовская **ЭФФЕКТЫ ЛОЗАРТАНА В СОСТАВЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВАРИАНТА ИНСЕРЦИОННО-ДЕЛЕЦИОННОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА.** В статье представлены результаты оригинального исследования, целью которого была оуенка эффектов лозартана у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и артериальной гипертензией в зависимости от аллельного варианата гена ACE. Было показано зависимость антигипертензивного и нефропротекторного эффектов эналаприла от варианта инсерционно-делеционного полиморфизма ACE. Результаты исследования свидетельствуют о различии влияний аллельного варианта гена ACE на показатели липидного обмена у гипертензивных пациентов с сахарным диабетом 2 типа в виде значимой гипертриглицеридемии у пациентов с DD-генотипом.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, артериальная гипертензия, I/D полиморфизм гена ACE, фармакогенетика, лозартан

Реферат. А. Є. Поляков, Т. Ю. Понятовська **ЕФЕКТИ ЛОЗАРТАНУ В СКЛАДІ КОМБІНОВАНОЇ ТЕРАПІЇ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ ТА АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВАРІАНТУ ІНСЕРЦІЙНО-ДЕЛЕЦІЙНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ АНГІОТЕНЗИН-ПРЕТВОРЮЮЧОГО ФЕРМЕНТА.** В статті наведено дані оригінального дослідження, що оцінювало ефекти лозартану у пацієнтів із артеріальною гіпертензією та цукровим діабетом 2 типу в залежності від алельного варіанту гена ACE. Було показано залежність антигіпертензивного та нефропротективного ефектів еналаприлу від варіанту інсерційно-делеційного поліморфізму ACE. Також результати дослідження свідчать про різний вплив алельного варіанту ACE на показники ліпідного обміну у гіпертензивних пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу та ускладнення у вигляді гіпертригліцеридемії у пацієнтів із DD-генотипом.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, артеріальна гіпертензія, I/D поліморфізм гена ACE, фармакогенетика, лозартан

Summary. A. Polyakov, T. Ponyatovska. **LOSARTAN EFFECTS IN COMBINED TREATMENT OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND HYPERTENSION IN DEPENDANCE ON INSERTION-DELETION ACE POLYMORPHISM.** - Odessa National medical university. The article contains data from original study, which aimed to evaluate losartan effects in hypertensives with type 2 diabetes mellitus in dependance on ACE I/D allelic variant. The results show that potential antihypertensive and nephroprotective effects of combined treatment are related to polymorphism of ACE gene. Also, results show complicated management of dyslipidemia in D-allele carriers and a trend to hypertriglyceridemia in DD-monozygous patients.

Key words: type 2 diabetes mellitus, hypertension, pharmacogenetics, losartan, I/D gene polymorphism ACE

Актуальність. Діабетична нефропатія (ДН) – головна причина захворюваності та смертності, пов'язаних із цукровим діабетом (ЦД), однак клінічний перебіг та прогноз щодо виникнення термінальної стадії хронічного захворювання нирок (ХЗН) високо варіабельний для різних пацієнтів [1]. ДН характеризується низкою ультраструктурних змін ниркової тканини. Гістологічно при ДН виявляють ущільнення бальної мембрани, мезангіальну та тубулярну гіпертрофію, розростання мезангіальних клітин, гломерулосклероз та тубулоінтерстиціальний фіброз. Ключові клінічні ознаки, що супроводжують такі структурні зміни – прогресуюче збільшення альбумінурії, підвищення артеріального тиску (АТ) та зниження функції нирок з подальшим розвитком уремії та термінальної стадії ХЗН [2]. Тригерами цих процесів є комбінація гемодинамічних та метаболічних механізмів, факторів росту, цитокінів та генетичної схильності. На більш пізніх стадіях, гемодинамічні та негемодинамічні пристосувальні механізми нирок реалізуються в порушення ниркової функції, в тому разі, якщо ренопротективну терапію не розпочато. Активація ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС) грає головну роль як в ініціації патологічного процесу, так і в прогресуванні діабетичної хвороби нирок [3].

Ангіотензин-перетворюючий фермент (АСЕ) міститься в епітеліальних та ендотеліальних клітинах різних органів, включаючи нирки, серцевий м'яз, легені та ендотеліальні клітини судин. ЦД є одним із захворювань, патогенез якого спряжений із зростанням концентрації АСЕ. Ген АСЕ розташований у 17 хромосомі людини та містить поліморфізм у вигляді інсерції або делеції ділянки ДНК в 16 інтроні. У численних дослідженнях було знайдено асоціацію між делеційним поліморфізмом (I/D) гену АСЕ та такими станами як ішемічна хвороба серця, АГ, захворювання артерій сітківки та ХЗН [4, 5, 6].

У літературних джерелах в якості генетичних маркерів, що обумовлюють predisпозицію до ДН та її подальшу реалізацію, наряду з поліморфізмами генів АСЕ та ангіотензину II, названі гени порушення натрій-літійового контртранспорту, генетично обумовлену інсулінорезистентність та гіперінсулінемію, втрату негативного заряду базальною мембраною ниркового клубочка [7].

Проте, незважаючи на велику кількість досліджень, що обґрунтовують поліморфізм генів РААС із певними особливостями перебігу АГ, ризиком виникнення ускладнень та прогресування ураження органів-мішеней, не було виявлено певної асоціації між розвитком гіпертензивної нефропатії або термінальної стадії ХЗН та поліморфними варіантами генів АСЕ та AT1R. Таким чином, на даний момент не існує клінічних рекомендацій, що розглядають відповідну терапевтичну стратегію, ґрунтуючись на генотипічних варіаціях РААС.

Метою дослідження було проаналізувати динаміку показників вуглеводного та ліпідного обміну, середньодобові значення рівнів АТ та мікроальбумінурії на фоні лікування лозартаном в складі комбінованої терапії у хворих на ЦД 2 типу та АГ в залежності від функціонального варіанту інсерційно-делеційного поліморфізму гена АСЕ.

Матеріал та методи дослідження. Було обстежено 79 пацієнтів середнім віком $64,2 \pm 4,2$ років, 36 жінок та 43 чоловіків. В дослідження включали хворих на ЦД 2 типу із АГ, що попередньо не отримували лікування блокаторами РААС. Критеріями виключення з дослідження був рівень швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) <45 мл/хв/1,73 м², що ускладнювало призначення блокаторів РААС та метформіну. Усіх пацієнтів було обстежено згідно Наказів МОЗ України №1118 від 21.12.2012, №384 від 24.05.2012 та уніфікованими клінічними протоколами з надання первинної та вторинної медичної допомоги хворим на ЦД 2 типу та АГ.

Для визначення компенсації вуглеводного обміну застосовували дослідження рівня глюкози крові глюкозооксидазним методом Хагедорна-Йенсена, натще та після навантаження. З метою ретроспективної оцінки ступеню компенсації ЦД використовували визначення глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) за допомогою набору «Діабет-тест» (Фосфосорб, Російська Федерація).

Для діагностики мікроальбумінурії було використано імуноферментний метод визначення «Micral-Test» (Boehringer Mannheim, Австрія). ШКФ розраховували за формулою CKD-EPI, згідно із 2012 Kidney Disease Improving Outcomes Guidelines [8].

Геному ДНК було виділено з лейкоцитів венозної крові за допомогою набору реагентів "ДНК-сорб-В" (ІнтерЛабсервіс, Російська Федерація). Поліморфні варіанти

гену ACE оцінювали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням комплектів реагентів для ампліфікації «SNP-експрес» виробництва ТОВ НВФ «Літех», Російська Федерація). ПЛР проводили на ампліфікаторі BIO-RAD (США). Для ампліфікації використовували 100-150 нг ДНК. Початкова денатурація при температурі 95°C тривалістю 10 хв. ПЛР протягом 40 циклів: денатурація при 95°C – 30 сек, отжиг при температурі 64°C – 30 сек., елонгація при 72°C протягом 30 сек. та остаточна елонгація 3 хвилини при 72°C. Розділення продуктів ампліфікації проводили в горизонтальному 2% агарозному гелі, приготуваному на одноразовому трис-боратному буфері.

Усі хворі обмежували споживання легкозасвоюваних вуглеводів з їжею та отримували збалансоване харчування за столом №9 за Певзнером. Пацієнти отримували стандартне лікування ЦД пероральними гіпоглікемічними засобами (в основному, метформіном, або комбінацією метформіну з інгібітором дипептилпептидази або бігуанідами). В якості антигіпертензивної та нефропротекторної терапії усі пацієнти отримували лозартан в добовій дозі 100 мг. Пацієнти із дисліпідемією отримували лікування розувастатином в добовій дозі 10-20 мг, за наявності вираженої гіпертригліцеридемії призначали фенофібрат в дозі 145 мг на добу. Клінічні обстеження проводили в два етапи – до початку лікування та через 12 тижнів після початку прийому прийому комбінованого лікування.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програмного забезпечення Statistica 10.0 (StatSoft, США). Нормальність розподілу ознак було перевірено згідно з критеріями Шапіро-Уїлка, статистичну достовірність розбіжностей між групами оцінювали за допомогою дисперсійного аналізу ANOVA. Показники мікроальбумінурії та ШКФ, зважаючи на розподіл показників, відмінний від нормального, аналізували з використанням непараметричних методів.

Результати та їх обговорення. Групи пацієнтів, що були отримані за результатами генотипування були співставними за віком та статевим складом. Кількість пацієнтів, монозиготних за делеційним варіантом генотипу ACE у досліджуваній групі була достовірно вищою, порівняно із даними інших досліджень, об’єктом яких були представники української та інших східноєвропейських популяцій [9,10]. Поясненням подібної високої розповсюдженості потенційно альтернуючого алельного варіанту може бути наявний реалізований генетичний ризик в групі осіб старшого віку, що вже мають маніфестну АГ та коморбідні стани.

Таблиця 1

РОЗПОДІЛ ПАЦІЄНТІВ В ГРУПАХ ЗА ВАРІАНТАМИ ПОЛІМОРФІЗМА ГЕНУ ACE

Генотип ACE	II	ID	DD
Кількість пацієнтів, (абс., %)	14 (17.72%)	13 (16.46%)	52(65.82%)
Жінок (абс., %)	7 (50%)	5 (38.46%)	24 (46.15%)
Чоловіків (абс., %)	7 (50%)	8 (61.54%)	28 (53.85%)
Середній вік пацієнтів, років	64,2±3,0	61,7±4,2	64,5±4,8

За всіма параметрами до лікування групи пацієнтів відповідно до виявленого генотипічного варіанту були співставними, окрім розподілів концентрацій ТГ та ХС ЛПНЩ (Табл.2). Подальший апостеріарний аналіз даних (з урахуванням поправки Бонфероні при множинному порівнянні критерії значущості прийнято р=0,01) до лікування виявив статистично значущі відмінності концентрації ТГ у пацієнтів із генотипами II та DD (p_{II-ID}=0,35; p_{ID-DD}=0,14; p_{II-DD}=0,006) із помірним переважанням даного показника у пацієнтів із II-генотипом. Концентрації ХС ЛПНЩ з урахуванням поправки Бонфероні не мали статистично значущих відмінностей (p_{II-ID} =0,08; p_{ID-DD} =0,73; p_{II-DD} =0,019).

Після лікування з’явилися певні відмінності у розподілах досліджуваних параметрів у групах, що свідчить про різний ефект фармакотерапії залежно від генотипу (Табл.2). У результаті аналізу розподілів досліджуваних параметрів в групах до і після лікування виявлено статистично значущі відмінності по середнім значенням офісного САТ у всіх групах, в той час як ступінь зниження офісного ДАТ була статистично

значущою лише в групі пацієнтів із II-генотипом. Подібні спостереження можуть свідчити про значний нефрогенний компонент діастолічної гіпertenзії в групах носіїв D-алелю і, відповідно, субоптимальний антигіпertenзивний ефект в даному випадку.

Таблиця 2

КЛІНІЧНІ ПАРАМЕТРИ ПАЦІЄНТІВ ДО ЛІКУВАННЯ ТА ЧЕРЕЗ 12 ТИЖНІВ
ПРИЙОМУ ЛОЗАРТАНУ

Параметр		До лікування	Після лікування	p_2
1		2	3	4
Середні значення офісного САТ, мм рт.ст.	II	$144,6 \pm 8,2$	$135,7 \pm 5,8$	0,001
	ID	$146,9 \pm 5,8$	$136,7 \pm 7,2$	0,002
	DD	$145,8 \pm 8,9$	$143,1 \pm 8,8$	0,006
	P_I	0,59	0,003	-
Середні значення офісного ДАТ, мм рт.ст.	II	$91,1 \pm 4,9$	$83,2 \pm 3,7$	0,002
	ID	$85,8 \pm 7,0$	$82,9 \pm 4,0$	0,123
	DD	$88,3 \pm 6,3$	$88,1 \pm 6,6$	0,749
	P_I	0,13	0,002	-
Глюкоза крові натще, ммоль/л	II	$6,1 \pm 1,1$	$5,6 \pm 0,8$	0,148
	ID	$5,7 \pm 1,7$	$5,7 \pm 0,8$	0,859
	DD	$5,8 \pm 1,5$	$6,6 \pm 0,7$	0,918
	P_I	0,39	0,77	-
Постпрандіальна глікемія, ммоль/л	II	$7,5 \pm 1,2$	$6,6 \pm 0,7$	0,038
	ID	$7,2 \pm 1,4$	$7,1 \pm 0,6$	0,937
	DD	$7,7 \pm 1,4$	$7,7 \pm 1,0$	0,924
	P_I	0,52	0,001	-
HbA1c, %	II	$7,0 \pm 1,2$	$6,5 \pm 1,1$	0,001
	ID	$6,6 \pm 1,5$	$5,2 \pm 0,6$	0,038
	DD	$6,6 \pm 1,4$	$5,9 \pm 0,7$	0,187
	P_I	0,46	0,001	-
ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	II	78,0 (66,0; 88,0)	76,0 (64,0; 80,0)	0,140
	ID	75,5 (54,0; 81,5)	76,0 (53,0; 83,0)	0,695
	DD	72,5 (56,0; 84,5)	73,5 (59,5; 82,5)	0,145
	p_I	0,28	0,89	-
Креатинін ммоль/л	II	$89,6 \pm 11,1$	$90,6 \pm 16,7$	0,937
	ID	$89,6 \pm 13,0$	$86,5 \pm 12,1$	0,556
	DD	$97,5 \pm 22,1$	$96,8 \pm 21,0$	0,838
	p_I	0,38	0,15	-
Мікроальбумінурія, мг/добу	II	150,0 (85,0; 360,0)	68,0 (56,0; 105,0)	0,024
	ID	145,0 (135,0; 300,0)	67,5 (55,0; 85,0)	0,005
	DD	145,0 (109,0; 250,0)	146,5 (91,0; 183,0)	0,988
	p_I	0,86	0,001	
Загальний холестерин, ммоль/л	II	$5,8 \pm 0,5$	$5,1 \pm 0,5$	0,003

Параметр		До лікування	Після лікування	p_2
1		2	3	4
	ID	$5,6 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,4$	0,003
	DD	$5,7 \pm 0,6$	$5,5 \pm 0,7$	0,029
	p_1	0,43	0,005	-
	II	$1,1 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,3$	0,397
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	ID	$1,1 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,3$	0,415
	DD	$1,2 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,3$	0,385
	p_1	0,85	0,89	-
	II	$4,1 \pm 0,5$	$3,7 \pm 0,4$	0,011
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	ID	$3,8 \pm 0,3$	$3,6 \pm 0,3$	0,328
	DD	$3,8 \pm 0,3$	$3,7 \pm 0,4$	0,365
	p_1	0,05	0,69	-
	II	$2,6 \pm 0,5$	$2,0 \pm 0,4$	0,019
ТГ, ммоль/л	ID	$2,4 \pm 0,8$	$1,6 \pm 0,6$	0,012
	DD	$2,1 \pm 0,7$	$2,5 \pm 0,7$	0,006
	p_1	0,01	0,001	-

p_1 - критерій значущості при перевірці гіпотези про відсутність статистично значущих розбіжностей між трьома незалежними групами, обчислений за критерієм Крaskела-Уоліса.

p_2 - критерій значущості при перевірці гіпотези про відсутність відмінностей між двома залежними групами (до та після лікування лозартаном), обчислений за критерієм Вілкоксона.

За показниками вуглеводного обміну статистично значущі зміни в результаті лікування було зафіксовано у групах носіїв І-алелю ($p=0,001$ для генотипу II та $p=0,038$ для генотипу ID), найкращого результату за показником постпрандіальної глікемії було досягнуто в групі пацієнтів з II генотипом ($p=0,038$).

За рівнями мікроальбумінурії кращих результатів у вигляді достовірного зменшення добової екскреції альбуміну із сечею також було досягнуто у групах пацієнтів-носіїв І-алелю ($p=0,024$ для генотипу II та $p=0,005$ для генотипу ID).

Ліпідний спектр в результаті комбінованої терапії зазнав достовірних змін у всіх пацієнтів, однак досягти цільових значень загального холестерину вдалося лише в групі осіб з гетерозиготним генотипом. Показник ЛПНЩ в результаті лікування достовірно знизився у пацієнтів з II-генотипом, однак цільових рівнів ($<1,8$ ммоль/л) не було досягнуто в жодній з груп (Global guidelines on type 2 diabetes mellitus, International Diabetes Federation, 2012). Зниження рівнів ТГ сироватки було досягнуто у групах носіїв І-алелю гену АСЕ. Несприятливих змін зазнав рівень тригліцеридів у пацієнтів із гомозиготним делеційним варіантом генотипу АСЕ. Слід зазначити, що більшість пацієнтів до лікування не потребували призначення фібрatів, однак через 12 тижнів високі рівні ТГ сироватки ($>2,3$ ммоль/л) були виявлені у 16 (30,76%) пацієнтів із DD-генотипом.

Висновки. Таким чином, варіант інсерційно-делеційного поліморфізму АСЕ чинить значний вплив на антигіпертензивний та нефропротективний ефекти лозартану. Найбільш значущим прогностичним фактором відносно оптимальної антипротеїнуричної дії лозартану виявилось носійство І-алелі АСЕ, пацієнти із II та ID варіантами генотипу АСЕ мали найбільш значне зниження показника мікроальбумінурії. Носійство D-алелі гену АСЕ є фактором не лише потенційно недостатньої відповіді на антигіпертензивну та нефропротективну терапію, але й слугувати причиною гіршої компенсації вуглеводного та ліпідного обміну. Питання раціональної фармакотерапії в таких випадках повинно бути вирішено індивідуально із підбором раціональної комбінації антигіпертензивних засобів, наприклад, шляхом додавання до блокатора РААС препарату із групи блокаторів кальцієвих каналів або малих доз діуретиків.

Важливими кроками до розуміння прогностичної та фармакогенетичної

значущості поліморфізму гену ACE є подальші масштабні дослідження з довготривалим періодом спостереження, що допоможе зафіксувати частоту серцево-судинних та ниркових подій у пацієнтів із ДН на фоні лікування блокаторами РААС.

Генотипування пацієнтів із ЦД 2 типу та АГ може слугувати важливим кроком до раннього диференційованого призначення антигіпертензивної терапії блокаторами РААС, а також антигіпертензивних препаратів інших класів з метою досягнення цільових рівнів АТ.

Література:

1. P. K. Jacobsen. Preventing and stage renal disease in diabetic patients – genetic aspect // J. Renin-Angiotensin-Aldosterone System. – 2005. – Vol. 6. – P. 1-14.
2. P. Ruggenti, P. Cravedi, G. Remuzzi. The RAAS in the pathogenesis and treatment of diabetic nephropathy // Nat. Rev. Nephrol. – 2010. - Vol. 6. – P. 319 - 330.
3. G. Braliou, A. G. Grigoriadou, P. I. Kontou, P. G. Bagos. The role of genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system in renal diseases: a meta-analysis // Computational and Structural Biotechnology Journal. – 2014. – Vol. 10. – P. 1-7.
4. M. Zivko. Impact of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on proteinuria and arterial hypertension // Coll. Antropol. – 2013. – Vol. 37, N 3. – P. 765-770.
5. Г. Е. Ройтберг, Ж. В. Дорош, Є. В. Аксьонов, Т. І. Ушакова. Вплив поліморфізму ангіотензин-перетворюючого фермента на виникнення синдрому інсулінорезистентності // Клініцист. – 2013. -№2. – С. 14 - 17.
6. Haque S.F. ACE insertion/deletion gene polymorphism determines efficacy of telmisartan: an ARB in type 2 diabetic nephropathy // J. Cell Tissue Research. - 2011. - Vol. 11, N 1. – P. 2595-2600.
7. Cooper Worobey C., Fisher NDL, Cox D, Forman JP, Curhan GC. Genetic polymorphisms and the risk of accelerated renal function decline in women. PLoS ONE 4(3): e4787. doi:10.1371/journal.pone.0004787.
8. KDIGO 2012. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease // Kidney Intern. Suppl.. - 2013. - №3. - P.1–150.
9. О. Є. Дубенко, В. В. Хвисюк, С. Л. Костюковський, Т. В. Данько. Мікроальбумінурія та поліморфізм гену ангіотензин-перетворюючого ферменту у пацієнтів з гострим інсультом // Проблеми безперервної освіти та науки України. – 2014. - №1. – С. 38 - 41.

Работа поступила в редакцию 14.08.2015 года.

Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования